



Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова
Российской академии наук

119991, Москва, ГСП-1, ул. Губкина, 3
Тел.: 499 135-62-13 дирекция, 499 135-20-41 канцелярия
Факс: 499 132-89-62

E-mail: iogen@vigg.ru
Internet: www.vigg.ru


01.06.2015 № 12504-02-2115/213

На № _____

УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального
государственного бюджетного
учреждения науки Института общей
генетики им. Н.И. Вавилова РАН

чл.-корр. РАН, д.б.н., проф.



Н.К. Янковский /

Отзыв ведущей организации

на диссертационную работу Шемякиной Ирины Игоревны «Красные и дальне-красные флуоресцентные белки, оптимизированные для мечения белков слияния», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности «Молекулярная биология» – 03.01.03.

В настоящее время зелёный флуоресцентный белок (GFP) и его гомологи активно применяются в биологии в качестве маркёров для мечения различных

структур – от отдельных белковых молекул до крупных структур в целых организмах. Тем не менее, актуальной задачей оставалось получение оптимальных красных мономерных флуоресцентных белков для мечения исследуемых белков в живых клетках, поскольку красная область спектра лучше других проникает сквозь плотные ткани и позволяет исследовать внутренние структуры в крупных живых объектах. Диссертационная работа Шемякиной Ирины Игоревны посвящена решению этой задачи.

Диссертация Шемякиной И.И. построена по традиционной схеме. Работа изложена на 101 странице, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, обсуждения результатов и списка цитируемой литературы. Все части исследования изложены хорошо и полно. Приведенные рисунки наглядно иллюстрируют содержащуюся в тексте информацию.

Обзор литературы адекватно отражает положение дел в области разработки флуоресцентных белков. Кроме природных флуоресцентных белков анализируются и их многочисленные искусственные модификации. Автор также описывает основные области и способы применения флуоресцентных белков. Обзор литературы дает исчерпывающее представление о теме и актуальности работы.

Раздел «Материалы и методы» подробно описывает ход экспериментов, проведенных диссертантом. Автором приведены прописи всех некоммерческих использованных растворов, последовательности использованных олигонуклеотидов, а также перечислены задействованные приборы. Следует отметить многообразие методов, использованных в ходе выполнения работы. Особенно подробно автор останавливается на генно-инженерных манипуляциях, составляющих костяк работы.

Результатами работы стали получение и описание набора красных мономерных флуоресцентных белков. Белок FusionRed, обладающий низкой цитотоксичностью, по результатам HPLC сохраняет мономерные свойства при высоких концентрациях. Показано, что в большинстве случаев качество

работы FusionRed в составе белков слияния не уступало лучшим мономерным зеленым флуоресцентным белкам. Высокий коэффициент молярной экстинкции при максимуме поглощения хромофора делает полученный белок потенциально эффективным акцептором энергии для FRET.

Белок FusionRed стал основой для получения обратимо фотоактивируемых и дальне-красного мономерных флуоресцентных белков. Полученные обратимо фотоактивируемые красные мономерные флуоресцентные белки являются высококонтрастными (яркость флуоресцентного сигнала и контраст между активированной и потушенной формами достигает 30 раз для белка mKateKFP1 и 20 раз для белка mKateKFP2). Белки mKateKFP1 и mKateKFP2 могут быть использованы как для локального оптического мечения белков слияния. Получен и охарактеризован дальне-красный флуоресцентный белок FusionRed-657.

Полученные флуоресцентные белки могут быть полезны в качестве маркеров для мечения белков в живых клетках и могут служить основой для разработки новых улучшенных вариантов флуоресцентных белков и биосенсоров.

В работе присутствуют некоторые опечатки и другие технические погрешности, что, однако, не снижает хорошего впечатления от работы.

Диссертационная работа Шемякиной И.И. является законченным научным исследованием. Полученные автором результаты достоверны, выводы обоснованы. Результаты диссертационной работы опубликованы в авторитетных российских и зарубежных журналах. Полученные автором белки успешно применяются в других лабораториях. Автореферат полностью отражает основные результаты исследования.

Диссертационная работа «Красные и дальне-красные флуоресцентные белки, оптимизированные для мечения белков слияния» соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней» от 24.09.2013 №842 для ученой степени кандидата наук, а ее автор Шемякина Ирина Игоревна заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.03 –«Молекулярная биология».

Отзыв обсужден и утвержден на семинаре Центра коллективного пользования «Генетический полиморфизм» Отделения биологических наук Российской академии наук при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, протокол №1 от 13 мая 2015 года.

Руководитель ЦКП «Генетический полиморфизм» ОБН РАН при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН,

доктор биологических наук

Ребриков Денис Владимирович

Контактная информация:

Почтовый адрес: 119991, ГСП-1, Москва, ул. Губкина, д. 3
8(903)7772464 E-mail: rebrikov@vigg.ru, www.vigg.ru

Подпись
удостоверяю

Ученый секретарь ИОГен РАН
доктор биологических наук



Огаркова О.А.